

# 鱼皮明胶抗紫外线损伤引起的皮肤光老化研究

陈铁军, 侯虎, 陆姣含, 司磊磊, 李八方

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

**摘要:** 本文研究了大马哈鱼皮明胶 (SG) 对光老化小鼠皮肤的保护机制。采用热提法制备了 SG 并对其分子量和氨基酸组成进行分析。ICR 小鼠随机分成 5 组 (每组 10 只): 正常组 (NC)、模型组 (MC)、维生素 C 组 (PC)、SG 低剂量组 (SG-L) 和 SG 高剂量组 (SG-H)。本文分析了皮肤组织中总超氧化物歧化酶 (T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和过氧化氢酶 (CAT) 的活力, 丙二醛 (MDA) 和羟脯氨酸 (HYP) 的含量, 并利用 HE、Masson 染色来评价 SG 对光老化皮肤的保护作用。结果表明, SG 平均分子量在 81.31 ku, 甘氨酸约占其氨基酸总量的 1/3, 疏水性氨基酸占 49.67%, 不含有半胱氨酸和色氨酸。SG 可以改善紫外线对皮肤中胶原纤维的损伤, 与模型组相比, SG 高剂量组可以显著提高 T-SOD 的活力 ( $p < 0.05$ )、HYP 含量 ( $p < 0.01$ )、降低 MDA 含量 ( $p < 0.05$ ), 使 CAT 和 GSH-Px 平均活力分别提高 23.70% 和 28.30%。SG 对紫外线引起的皮肤光老化有保护作用。

**关键词:** 大马哈鱼皮; 明胶; 紫外照射; 光老化皮肤; 羟脯氨酸; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2016)5-34-39

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.5.06

## Effects of Gelatin from Fish Skin on Ultraviolet Irradiation-induced Skin Photoaging

CHEN Tie-jun, HOU Hu, LU Jiao-han, SI Lei-lei, LI Ba-fang

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Abstract:** The protective mechanism of gelatin against ultraviolet irradiation-induced photoaging of skin was investigated in this study. Gelatin derived from pacific-salmon skin (SG) was extracted using hot water and the molecular weight and amino acid composition analyzed. Institute of Cancer Research (ICR) mice were randomly divided into five groups, with ten mice per group: normal group (NC), model group (MC), vitamin C group (PC), low dose SG treatment group (SG-L), and high dose SG treatment group (SG-H). The activities of total superoxide dismutase (T-SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), and catalase (CAT) were measured in skin tissues, as were the levels of malondialdehyde (MDA) and hydroxyproline (HYP). The protective effects of SG on photoaging were evaluated by haematoxylin and eosin staining and Masson's trichrome staining. The results indicated that the average molecular weight of SG was 81.31 Ku. Glycine accounted for approximately one-third of the total amino acids in SG, and 49.57% of amino acids were hydrophobic. Cysteine and tryptophan were not detected in SG. SG could protect collagen fibers against UV irradiation-induced photodamage. Compared with the control group, the SG-H group exhibited significantly enhanced activity of T-SOD ( $P < 0.05$ ), increased levels of HYP ( $P < 0.01$ ), and reduced levels of MDA ( $P < 0.05$ ). In addition, average activities of CAT and GSH-Px increased by 23.70% and 28.30%, respectively, in the SG-H group. This study shows that SG can effectively protect mouse skin from UV irradiation-caused photodamage.

**Key words:** pacific-salmon skin; gelatin; ultraviolet irradiation; photoaging skin; hydroxyproline; antioxidant properties

大马哈鱼是世界上最重要的经济鱼类之一, 属鲑科, 具有较高的营养价值。在大马哈鱼的加工过程中,

收稿日期: 2015-06-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31401476); 教育部博士点基金 (20130132120024); 中央高校青年教师科研专项基金项目 (201313002); 山东省海洋经济创新发展区域示范项目

作者简介: 陈铁军 (1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品的高值化利用

通讯作者: 侯虎 (1984-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 海洋功能蛋白及活性肽

产生了 7~8% 的鱼皮, 而鱼皮干物质中 70% 以上是胶原蛋白。以大马哈鱼皮为原料制备胶原蛋白或明胶具有显著的优势, 一方面鱼类明胶具有生物活性高、抗原性低、致敏性低等特性; 另一方面鱼类明胶的生物安全性高、应用范围广, 可以避免疯牛病、口蹄疫等疾病的威胁及宗教信仰的限制<sup>[1]</sup>。同时, 还可以充分利用加工副产物大马哈鱼皮, 增加其附加值, 避免鱼皮导致的环境污染。

皮肤光老化是由于长期紫外线辐射导致皮肤加速衰老的现象, 其特征表现为暴露部位粗糙、皱纹加

深加粗、表皮增厚、不规则性色素沉着、真皮层弹性纤维变性聚集成团等<sup>[2]</sup>。近年来,随着臭氧层空洞越来越严重,到达地球表面紫外线增加,加速了皮肤光老化的发生。研究证实皮肤光老化的发生主要与真皮层胶原的变化有关,真皮层胶原是人体皮肤中主要的结构蛋白,也是含量最丰富的蛋白质。紫外线照射会使真皮层中成纤维细胞数量逐渐减少,合成胶原的能力下降,胶原酶降解胶原的能力增强,使胶原含量减少,最终导致皮肤光老化的发生<sup>[3]</sup>。研究发现,大马哈鱼皮明胶具有促进伤口愈合的作用,经碱性蛋白酶水解后的产物具有抗氧化活性<sup>[4,5]</sup>。因此,大马哈鱼皮明胶具有潜在的抗皮肤光老化优势。然而,有关大马哈鱼皮明胶对紫外线损伤引起的皮肤光老化影响的研究较少。

因此,本研究以大马哈鱼皮为原料,采用热水提取法制备明胶,并对其分子量和氨基酸组成进行分析,建立光老化小鼠皮肤模型探讨大马哈鱼皮明胶对光老化皮肤的影响,为利用大马哈鱼皮明胶研发海洋护肤化妆品和功能性食品提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

大马哈鱼皮(产于北太平洋)由青岛福生水产品加工厂提供。SPF级ICR小鼠,雌性,4~6周龄,18~22g,由青岛鲁抗实验动物技术有限公司提供,许可证号:scxk鲁20130001。牛血清白蛋白(67000u),细胞色素C(15000u),胰岛素(5500u),维生素B12(1350u),谷胱甘肽(307u)购自美国Sigma公司;T-SOD、CAT、GSH-Px、MDA、考马斯亮蓝蛋白含量测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;维生素C购自北京索莱宝生物科技有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 主要仪器设备

紫外光源,2只波长为320~400nm,峰值为365nm的UVA灯管和1只波长为290~320nm,峰值297nm的UVB,南京华强电子有限公司;UVA和UVB紫外线强度测定仪,北京师范大学光电仪器厂;OLYMPUS BX41生物荧光显微镜,日本OLYMPUS公司;OLYMPUS DP70型显微成像系统,日本OLYMPUS公司;高效液相色谱仪Agile1200,美国安捷伦公司;BR4i型冷冻离心机,法国Jouan公司;日立835-50型氨基酸自动分析仪,日本日立公司;Christ RLPHR 1-4 LD Plus真空冷冻干燥机,德国Christ公

司;Leica RM2235组织切片机,德国Leica公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 大马哈鱼皮明胶的制备

取一定量的大马哈鱼皮流水解冻,去除鱼鳞及脂肪组织,清洗干净后剪成小块,加入0.01 mol/L的盐酸( $m/V=1:6$ )浸泡30 min,水洗至中性,75℃热水提取( $m/V=1:2$ )3 h,离心,上清液浓缩,冷冻干燥得到SG样品,备用。

#### 1.3.2 大马哈鱼皮明胶分子量的测定

分别取牛血清白蛋白,细胞色素C,胰岛素,维生素B12,谷胱甘肽及SG样品各1 mg,分别溶于1 mL的超纯水中,用0.22  $\mu\text{m}$ 水系微孔滤膜过滤后进样,测定各个标准品及样品的出峰时间。色谱柱:TSK GEL G2000SWXL(7.8 mm $\times$ 30.0 cm);流动相:含0.1% TFA 30%乙腈;流速:0.5 mL/min;进样体积:20  $\mu\text{L}$ ;紫外检测波长:220 nm;柱温:37℃。

#### 1.3.3 大马哈鱼皮明胶中氨基酸组成与含量分析(GB/T 14965-94)

准确称取15 mg SG于安瓿瓶中,加入6 mol/L盐酸,密封后在110℃水解24 h,得到的水解产物用氨基酸自动分析仪测定分析。

#### 1.3.4 光老化小鼠皮肤模型建立

50只小鼠随机分为正常对照组(NC),模型对照组(MC),阳性对照组(PC),大马哈鱼皮明胶低(SG-L)、高(SG-H)剂量组,每组10只。PC组灌胃100 mg/kg-d维生素C;SG-L和SG-H组分别灌胃100 mg/kg-d和500 mg/kg-d的SG;NC和MC组灌胃相应体积的蒸馏水。各组小鼠在紫外照射实验开始前,预防性灌胃2周,第3周开始脱毛,并进行紫外照射,其中NC组只灌胃不进行紫外照射。实验结束时,UVA和UVB累积照射剂量分别是9.87 J/cm<sup>2</sup>和1.36 J/cm<sup>2</sup>。

#### 1.3.5 皮肤中MDA、T-SOD、GSH-Px、CAT、GSH的测定

取小鼠背部同一区域皮肤制成10%组织匀浆,参照试剂盒操作说明分别测定皮肤组织匀浆中MDA和蛋白含量,T-SOD、GSH-Px和CAT的活力。

#### 1.3.6 皮肤组织HE染色<sup>[6]</sup>

取小鼠皮肤组织置于4%的中性甲醛中固定,梯度脱水,石蜡包埋,4  $\mu\text{m}$ 连续切片,脱蜡,常规复水,HE染色。

#### 1.3.6 Masson染色<sup>[6]</sup>

取小鼠皮肤组织置于4%的中性甲醛中固定,梯度脱水,石蜡包埋,4  $\mu\text{m}$ 连续切片,脱蜡,常规复水,Masson染色。

### 1.3.7 皮肤中羟脯氨酸 (HYP) 含量的测定

采用氯胺 T 法测定皮肤组织中羟脯氨酸含量<sup>[7]</sup>。

### 1.3.8 统计学分析

采用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析, 数据以平均值±标准偏差表示,  $p < 0.05$  结果具有统计学显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 大马哈鱼皮明胶分子量的测定

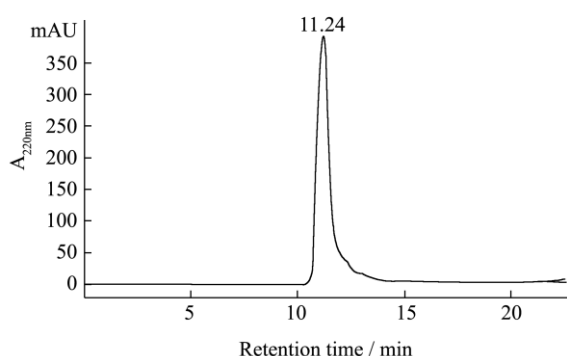


图 1 SG 的分子量分布

Fig.1 Molecular weight distribution of SG

高效液相色谱能够较准确地测定 SG 的分子量分布 (见图 1)。以标准蛋白质的相对分子质量的对数 (lgMw) 对保留时间 (t) 进行回归处理得到标准曲线为  $\lg Mw = -0.2088 t + 7.2579$ ,  $r^2 = 0.9994$ , 线性关系良好。图 1 中 SG 出峰时间是 11.24 min, 对应其相对分子质量主要分布在 81.31 ku, 只出现一个吸收峰, 峰宽较窄且峰形较好, 说明 SG 的纯度较高且分子量比较集中。

### 2.2 大马哈鱼皮明胶氨基酸组成分析

SG 中氨基酸组成如表 1 所示, Gly 含量为 25.87%, 约占氨基酸总量的 1/3, Ala、Val、Leu、Ile 等疏水性氨基酸占氨基酸总数的 49.67%, 不含有 Cys 和 Trp。研究发现<sup>[8]</sup>一些从蛋白水解物中分离得到的抗氧化活性肽的 C 末端和 N 末端都是疏水性氨基酸。SG 中疏水性氨基酸的含量较高说明其在体内发挥抗氧化活性具有一定的优势。Hyp 是反映胶原蛋白含量的重要指标, SG 中 Hyp 含量为 8.28%, 进一步说明制备的 SG 纯度较高。

### 2.3 大马哈鱼皮明胶对光老化小鼠皮肤中羟脯氨酸 (HYP) 含量的影响

由图 2 可知, 与 NC 组相比较, MC 组小鼠皮肤

中羟脯氨酸含量显著性降低 ( $p < 0.01$ ), 平均含量降低了 46.90%。与 MC 组相比较, PC 组和 SG 低高剂量组小鼠皮肤中羟脯氨酸含量显著性提高 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ), 并存在剂量依赖关系。HYP 是皮肤胶原的特征性氨基酸, 其含量可以间接反映出真皮内胶原蛋白含量的变化, 而胶原蛋白含量的变化可以反映皮肤的衰老程度。图 2 结果表明, 紫外线照射可以明显的降低小鼠皮肤中 HYP 的含量, 而 SG 能显著抑制紫外照射所致的 HYP 含量的下降, 对紫外线诱导的皮肤光老化有一定的抑制作用。向等<sup>[9]</sup>研究认为紫外线照射使机体产生过多自由基, 羟化酶在自由基作用下失去羟化功能, 使脯氨酸不能羟化为 HYP, 导致 HYP 含量下降。SG 能抑制紫外线照射导致的皮肤中羟脯氨酸含量的降低, 可能是通过清除光老化皮肤中过多的自由基, 减轻氧化损伤起作用的。

表 1 大马哈鱼皮明胶的氨基酸组成分析

Table 1 Amino acid composition of SG

氨基酸	SG/(mol/100 mol)	氨基酸	SG/(mol/100 mol)
Asp	6.71	Leu	3.10
Thr	3.01	Tyr	2.52
Ser	6.63	Phe	2.83
Glu	9.84	Lys	3.93
Gly	25.87	His	1.56
Ala	8.48	Arg	6.53
Cys	0.00	Pro	4.06
Val	3.48	Trp	0.00
Met	1.85	Hyp	8.28
Ile	1.32		
Total	100		

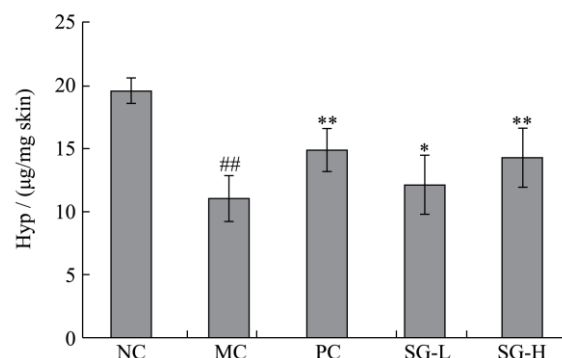


图 2 SG 对皮肤组织中羟脯氨酸含量的影响

Fig.2 Effect of SG on HYP level in the skin (n=10,  $\bar{x} \pm s$ )

注: 与正常组相比,  $## p < 0.01$ ,  $* p < 0.05$ ; 与模型组相比,  $** p < 0.01$ ,  $* p < 0.05$ 。

### 2.4 皮肤组织的一般形态学变化 (HE 染色)



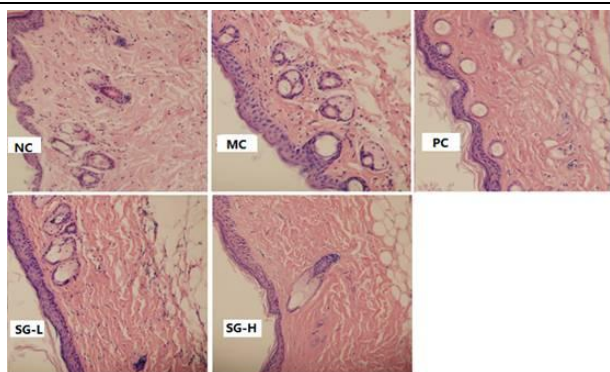


图3 SG对组织形态的影响(HE染色)(200x)

Fig.3 Effect of SG on the histological appearance of the mouse skin (HE staining) (200x)

由图3的染色结果可以看出, NC组小鼠的皮肤表皮层较薄, 真皮层可见波浪状纤维组织, 分布均匀; 而MC组小鼠皮肤组织出现了明显的病理改变, 表皮层出现不同程度的增厚, 真皮层组织排列紊乱, 纤维出现了断裂现象, 这与Hou<sup>[10]</sup>等研究的紫外线引起的光老化小鼠皮肤的变化特征一致。与模型组相比, PC组和SG低高剂量组得到一定程度的改善, 表皮层变薄, 真皮层纤维排列较整齐, 纤维断裂现象较少, 其中, SG-H组的改善效果最明显。说明本实验成功建立了小鼠皮肤光老化模型, 同时也说明SG可以改善长期紫外线照射导致的皮肤光老化。

### 2.5 皮肤组织胶原形态变化 (Masson 染色)

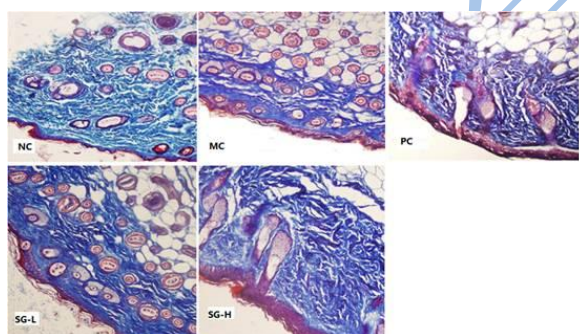


图4SG对胶原纤维形态的影响 (Masson 染色) (200x)

Fig.4 Effect of SG on the morphology of collagen fibers (Masson's trichrome staining) (200x)

由图4 Masson 染色的结果可知, 与NC组小鼠皮肤相比较, MC组小鼠皮肤表皮层增厚, 真皮层胶原纤维数量减少, 分布疏松不均, 粗细不等, 部分胶原纤维有断裂的现象; 与MC组小鼠皮肤相比较, PC组、SG低高剂量组小鼠皮肤真皮层胶原纤维形态得到一定的改善, 胶原纤维的含量有一定程度的增加, 分布较均匀, 方向大致与皮肤表面平行, 断裂现象较少。其中, SG-H组改善效果最明显, 胶原纤维分布均匀, 形态接近正常组。

由此可知, 紫外线照射会使皮肤中胶原纤维数量减少, 胶原含量降低, SG可以减轻紫外线辐射导致的胶原纤维的损伤, 提高皮肤中胶原的含量, 这与羟脯氨酸含量测定的结果一致。Chung<sup>[11]</sup>等研究表明, 长期的紫外线照射会打破皮肤中胶原合成和降解的平衡, 使胶原的含量降低, 导致皮肤光老化的发生。SG对紫外线引起的皮肤光老化的保护可能是通过调节皮肤中胶原的合成和降解起作用的。

### 2.6 大马哈鱼皮明胶对光老化小鼠皮肤中

#### MDA含量的影响

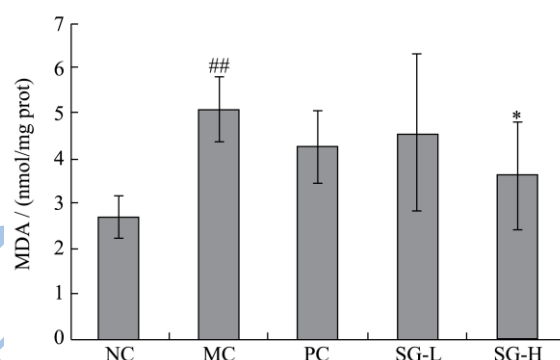


图5 SG对皮肤中MDA含量的影响

Fig.5 Effect of SG on skin MDA content (n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

注: 与正常组相比,  $^{##}p < 0.01$ ,  $^{#}p < 0.05$ ; 与模型组相比,  $^{**}p < 0.01$ ,  $^{*}p < 0.05$ 。

由图5可知, 与NC组相比较, MC组小鼠皮肤中的MDA含量显著性提高 ( $p < 0.01$ ), 平均含量提高了93.80%。与MC组相比较, PC和SG低高剂量组皮肤中MDA的含量降低, 其中SG-H组MDA的含量显著性降低 ( $p < 0.05$ )。MDA是脂质过氧化反应链终止阶段产生的小分子产物, 在组织中的含量可以间接反映自由基的产生情况和机体组织受氧化损伤程度<sup>[12]</sup>。图5的结果说明紫外线照射会导致皮肤中脂质过氧化, MDA含量增高, Ishii<sup>[13]</sup>等也发现紫外照射会使皮肤中产生大量的自由基, 自由基会使皮肤组织中的脂质发生氧化损伤, MDA含量明显增高。研究结果表明, SG可以减轻自由基对皮肤组织中脂质氧化损伤, 降低光老化皮肤中MDA的含量。

### 2.7 大马哈鱼皮明胶对光老化小鼠皮肤中抗

#### 氧化酶的影响

为了进一步探索SG对紫外线照射诱导的小鼠皮肤光老化的保护作用途径, 对皮肤组织中内源性抗氧化酶活力进行测定, 结果如图6所示。与NC组

相比较, MC 组小鼠皮肤中 CAT、GSH-Px 和 T-SOD 平均活力显著下降 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ), 分别下降了 54.44%、45.31% 和 23.01%。与 MC 组相比较, SG 低高剂量组均能够提高 T-SOD、GSH-Px 和 CAT 的活力, 并具剂量依赖关系。其中, SG-H 组小鼠皮肤中这三种抗氧化酶活力最高, T-SOD 和 GSH-Px 活力显著性提高 ( $p < 0.05$ )。

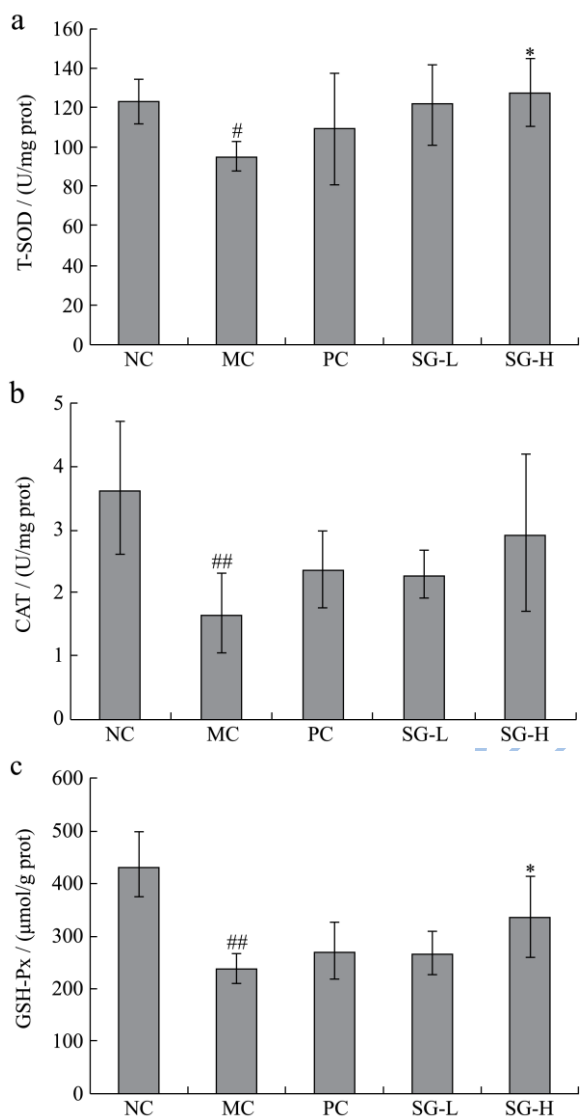


图 6 SG 对光老化小鼠皮肤中 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 的活力的影响

Fig.6 Effect of SG on the activities of T-SOD, CAT, and GSH-Px on photoaged skin (n = 10,  $\bar{x} \pm s$ ).

注: 与正常组相比, <sup>##</sup> $p < 0.01$ , <sup>#</sup> $p < 0.05$ ; 与模型组相比, <sup>\*\*</sup> $p < 0.01$ , <sup>\*</sup> $p < 0.05$ 。

SOD 是体内主要的抗氧化酶, SOD 活力的高低反映了组织细胞清除超氧阴离子的能力。SOD 通过歧化反应, 能使两个超氧阴离子相互作用形成过氧化氢。过氧化氢则可由过氧化氢酶 (CAT) 和含硒的谷胱甘肽过氧化物酶 (se-GSH-Px) 来清除, 从而保护细胞

结构与功能<sup>[14]</sup>。紫外线照射引起皮肤产生较多的自由基, 同时使 T-SOD、GSH-Px、CAT 的活力降低<sup>[10]</sup>, 破坏体内抗氧化体系的平衡, 导致氧化损伤, 从而引起皮肤的光老化。图 6 的实验结果表明, SG 可以通过提高 CAT、GSH-Px 和 T-SOD 的活力来提高光老化小鼠皮肤的自由基清除能力和抗氧化能力, 减轻对皮肤中胶原纤维和脂肪的氧化损伤, 保护皮肤组织的结构和功能。

### 3 结论

大马哈鱼皮明胶分子量主要集中在 81.31 ku。大马哈鱼皮明胶可以显著地抑制光老化皮肤中羟脯氨酸含量的降低, 改善紫外线诱导的皮肤表皮增厚, 减轻胶原纤维的损伤, 并呈剂量依赖关系, 作用途径可能是通过提高光老化小鼠皮肤中抗氧化酶 T-SOD、CAT 和 GSH-Px 的活力来减少自由基对皮肤中蛋白质和脂质的氧化损伤, 缓解紫外照射对皮肤的光老化损伤。

### 参考文献

- [1] Yang H, Wang Y. Effects of concentration on nanostructural images and physical properties of gelatin from channel catfish skins [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(3): 577-584
- [2] Kong S Z, Chen H M, Yu X T, et al. The protective effect of 18  $\beta$ -Glycyrrhetic acid against UV irradiation induced photoaging in mice [J]. Experimental Gerontology, 2015, 61: 147-155
- [3] Brennan M, Bhatti H, Nerusu K C, et al. Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin [J]. Photochemistry and Photobiology, 2003, 78(1): 43-48
- [4] Pei X, Yang R, Zhang Z, et al. Marine collagen peptide isolated from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) skin facilitates learning and memory in aged C57BL/6J mice [J]. Food Chemistry, 2010, 118(2): 333-340
- [5] Zhang Z, Zhao M, Wang J, et al. Oral administration of skin gelatin isolated from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) enhances wound healing in diabetic rats [J]. Marine Drugs, 2011, 9(5): 696-711
- [6] Tanaka C, Fujimoto M, Hamaguchi Y, et al. Inducible costimulator ligand regulates bleomycin-induced lung and skin fibrosis in a mouse model independently of the inducible costimulator/inducible costimulator ligand pathway [J]. Arthritis & Rheumatism, 2010, 62(6): 1723-1732
- [7] 王世巍,刘静波,王莹,等.蛋清高 F 值寡肽对受试小鼠皮肤

- 中羟脯氨酸含量影响的研究[J].食品科学, 2008, 29(11): 612-615
- WANG Shi-wei, LIU Jing-bo, WANG Ying, et al. Effects of high F ratio oligopeptide from egg white on L-hydroxyproline content in skin of mice [J]. Food Science, 2008, 29(11): 612-615
- [8] Sun L P, Zhang Y F, Zhuang Y L. Antiphotaging effect and purification of an antioxidant peptide from tilapia (*Oreochromis niloticus*) gelatin peptides [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(1): 154-162
- [9] 向亚平,王斌,鲁健云,等.强脉冲激光对小鼠皮肤老化的作用及其机制[J].中南大学学报(医学版),2009,34(5):375-381
- XIANG Ya-ping, WANG Bin, LU Jian-yun, et al. Effect and mechanism of intense pulsed laser on skin aging in rats [J]. J. Cent. South Univ. (Med. Sci.) 2009, 34(5): 375-381
- [10] Hou H, Li B F, Zhang Z H, et al. Moisture absorption and retention properties, and activity in alleviating skin photodamage of collagen polypeptide from marine fish skin [J]. Food Chemistry, 2012, 135(3): 1432-1439
- [11] Chung J H, Seo J Y, Choi H R, et al. Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo [J]. Journal of Investigative Dermatology, 2001, 117(5): 1218-1224
- [12] 杨强,李新华,王琳,等.银杏果多糖的物化性质及抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2013,29(10):2395-2400
- YANG Qiang, LI Xin-hua, WANG Lin, et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* L. nut [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(10): 2395-2400
- [13] Ishii Y, Sugimoto S, Izawa N, et al. Oral administration of bifidobacterium breve attenuates UV-induced barrier perturbation and oxidative stress in hairless mice skin [J]. Archives of Dermatological Research, 2014, 306(5): 467-473
- [14] Olsvik P A, Kristensen T, Waagbø R, et al. mRNA expression of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GSH-Px) and lipid peroxidative stress in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to hyperoxic water during smoltification [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2005, 141(3): 314-323